

mRNA ワクチンに関する リフレクションペーパー検討事項

山口 照英*^{1,*2}, 小川 孝*², 吉田 智志*², 安藤 剛*², 真木 一茂*², 櫻井 陽*²,
荒木 康弘*²

Point-to-Consider for the Reflection Paper of mRNA Vaccine

Teruhide YAMAGUCHI*^{1,*2}, Takashi OGAWA*², Satoshi YOSHIDA*², Tsuyoshi ANDO*²,
Kazushige MAKI*², Akira SAKURAI*² and Yasuhiro ARAKI*²

1. 序論

2020年に本格化したSARS-CoV-2パンデミックにおいて、mRNAワクチンの果たした役割は非常に大きなものであった。mRNAワクチンは、SARS-CoV-2ワクチンの中で最も早く承認され、その発症予防効果^{1,2)}は90%を超え、かつ高い重症化予防効果^{2,3)}も報告された。ワクチンとして初めてのモダリティであるmRNA製品が、SARS-CoV-2パンデミックワクチンとして実用化されたことは、極めて驚くべきことであった。

このようなmRNAワクチンの高い奏効性は、単に抗体誘導の高さだけでなく、生体内で抗原を発現させることによって液性免疫と細胞性免疫の両方の誘導能の高さであり⁴⁾、更にmRNAワクチンの自然免疫活性化も貢献している可能性が示唆されているが⁵⁾、現時点では必ずしも明確ではない (Fig. 1)。一方で、mRNAワクチンを他の感染症、例えば季節性インフルエンザに適用する検討が行われているが、SARS-CoV-2ほどの劇的な効果が得られているわけではなく、従来型のHAスプリットワクチン

に比べて、現時点 (2023年5月時点) では必ずしも優位性が示されているわけではない⁶⁾。

上記のように、mRNAワクチンの品質・有効性・安全性評価は、必ずしも十分な知見や経験の蓄積がない中で行っており、今後、他の感染症に向けた開発も見据えて、評価の在り方を考える必要がある。特にSARS-CoV-2以外の感染症に向けたワクチン開発が行われることを念頭に、その設計や品質管理の在り方のみならず有効性や安全性について、mRNA特有に考慮すべき視点がないか検討する必要がある。例えば、投与された細胞内で増殖性を持つmRNAワクチンも開発が行われていることは^{7,8)}、mRNAワクチン特有の検討事項の一つである。

本総説は、mRNAワクチンの開発における品質・有効性・安全性に関する規制的要件について検討したものである。ただし、ワクチン開発における非臨床試験及び臨床試験についての考え方は、関連するガイドラインを踏まえて実施することを前提としている。

*1 日本薬科大学 埼玉県北足立郡伊奈町小室10281 (〒362-0806)

Nihon Pharmaceutical University, 10281 Komuro, Ina-machi, Kitaadachi-gun, Saitama 362-0806, Japan

*2 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 東京都千代田区霞が関3-3-2 新霞が関ビル (〒100-0013)

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, Shin-Kasumigaseki Bldg., 3-3-2 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-0013, Japan

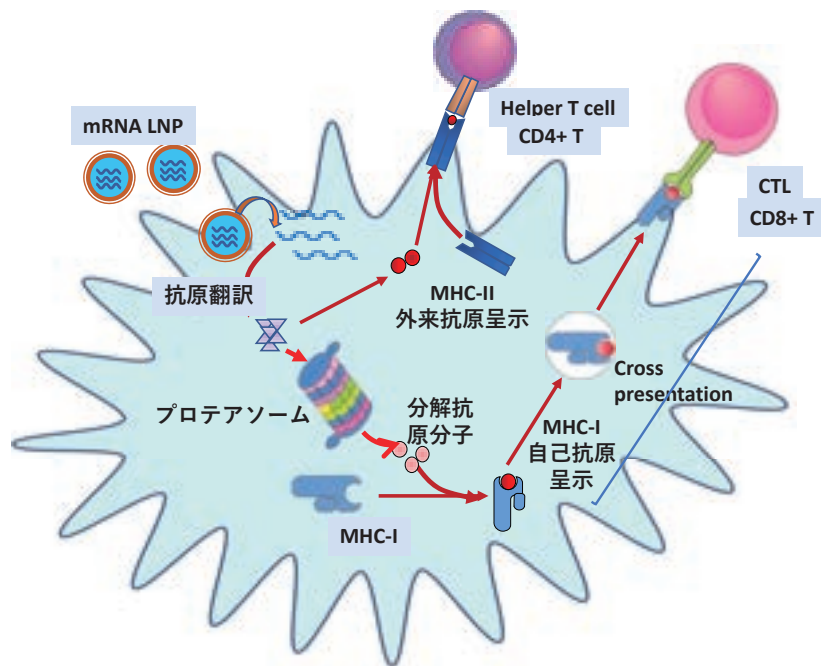


Fig. 1 mRNA投与による抗ウイルス免疫応答の惹起

細胞内に取り込まれたmRNAから抗原タンパク質が、MHC-IIに提示され、MHC-IIに提示されたワクチン抗原により、Helper T cellの活性化等を通じて抗体産生（液性免疫）が誘導される。一方でmRNAから翻訳された抗原分子はプロテアソームで分解されるとともにMHC-Iによって抗原提示（cross-presentation）されることにより、CTL（Cytotoxic T Lymphocyte）の活性化を通じて細胞性免疫の活性化を引き起こす。

2. mRNAワクチンの開発設計

ウイルス感染症に対するmRNAワクチンの抗原遺伝子には、対象とするウイルスの細胞への感染機構に基づき、ウイルスの細胞への感染受容体と結合するウイルス表面タンパク質をコードする配列が主として選ばれる。ただし、一般的にウイルスの感染では、複数の細胞タンパク質がウイルスの細胞への接着から細胞内へのウイルスゲノムの導入に関わっていることが多く、またその感染過程に対応するように、複数のウイルスタンパク質が関与することが知られている。そのため、感染過程に関与する、細胞受容体と結合するウイルスタンパク質以外の分子を、mRNAワクチンによって細胞に発現させるかはワクチンの設計において非常に重要である^{9, 10}。更に、目的とするウイルス抗原をどのような形で発現させるのか、すなわち分泌タンパク質とするのか、細胞膜での発現を目的とするのか、あるいは粒子形成をさせるのかは、mRNAワクチンの開発戦略と密接に関連する。薬事申請においてmRNAワクチンの開発設計を説明する際には、その発現デザ

インを含めた製品設計と、対象とする感染症の予防の観点からの妥当性を説明することが求められる。

非増殖型のmRNAワクチンの基本構造は、5'-Cap構造、目的遺伝子上流の5'非翻訳配列、目的遺伝子配列、その下流の3'非翻訳配列、ポリAなどから構成される (Fig. 2)。mRNAを構成する通常のヌクレオシドは、自然免疫を活性化する作用がある¹¹⁻¹³。そのため、ウリジンをシュドウリジンに改変するといったヌクレオチドを構成する核酸を修飾することにより、自然免疫の活性化を抑制することは、mRNAワクチンのリスク・ベネフィットバランスを改善する場合の重要な要素である^{14, 15}。また核酸修飾の他にも、2本鎖RNAやRNAの高次構造も目的タンパク質の発現や自然免疫の活性化にかかわるとされており¹⁶、その例として製品に含まれる2本鎖RNAが、TLR3だけでなく、RIG-IやMDA5によっても認識され、I型インターフェロン産生を引き起こす可能性が知られている。

mRNAのG:C含有量を多くすることは、*in vitro*及び*in vivo*でのタンパク質翻訳発現におけるmRNAの安定化を増加させることが報告されてい

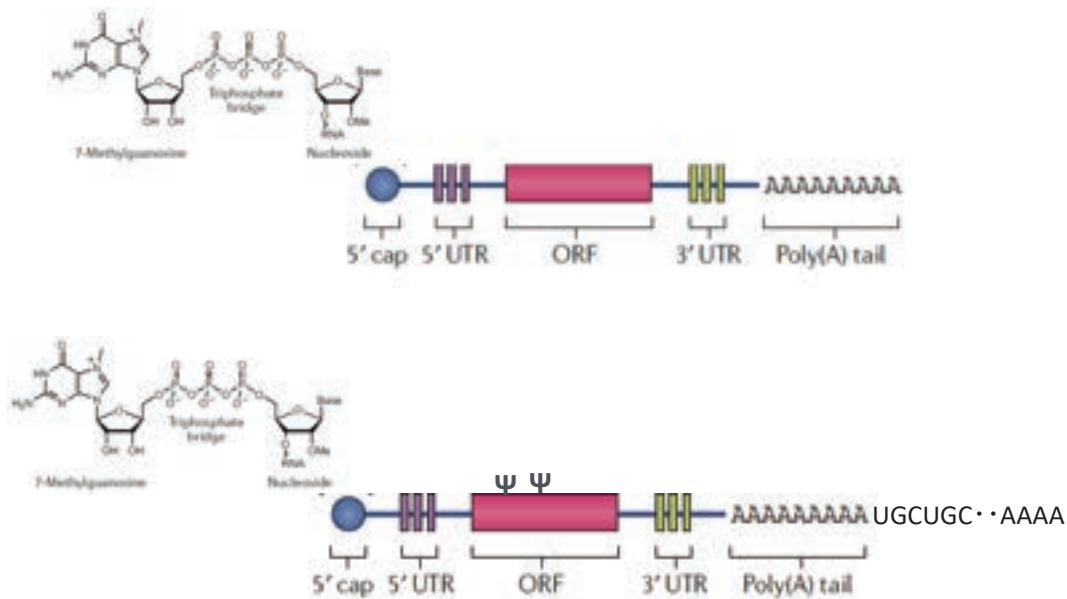


Fig. 2 mRNAワクチンの基本構造

mRNAワクチンのmRNAは、シュドウリジンへのヌクレオチド置換やポリAテールへのUGCリピートの挿入など複数の改変が行われている。

る^{17, 18)}。またヒト細胞で使用される頻度の高いコドンを用いると、目的タンパク質の発現レベルの向上にもつながる可能性があり、mRNAの塩基配列をどのようにデザインするかは、抗原の発現持続性や免疫誘導に大きく影響を与える可能性がある。その一方で、mRNAの塩基配列の改変は2次構造や高次構造に影響を与え、その翻訳に大きく影響を与える可能性がある¹⁹⁾。

更に、mRNAを効率よく製造するための製法設計は、mRNAワクチンの品質管理において重要な情報をもたらす。例えば、*in vitro*転写反応で用いるテンプレートDNAをどのように調製するか、あるいは転写反応に用いた原材料からのmRNAの精製法など製法管理戦略の妥当性を説明することが重要である。また開発段階で配列や修飾の改変を行う場合には、その変更によって抗原発現がどのように影響を受けるかを評価しておくことが、配列改変の妥当性を説明するのに有用である。

以上のように、mRNAの構造設計とmRNAを効率よく製造するための製法設計は、医薬品としてのmRNAワクチンの性質及び品質特性を理解するために非常に重要な情報である。

なお前述の通り、アルファウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼをmRNAに挿入し、細胞質内

でのmRNA増幅システムを利用することによってヒト細胞内で目的mRNAの発現を増幅させる技術も、mRNAワクチンの開発に際して用いられている²⁰⁾。この増幅性mRNAワクチンでは、投与された細胞内で大量のmRNAが生産されることにより、強い抗原刺激が惹起されることから、より少量のmRNA投与で免疫誘導が可能と期待されている。一方で、RNA増幅システムを使用した際の免疫応答は、生じたRNAそのものによってワクチンの強力なアジュバント効果を引き起す可能性がある。

3. mRNAワクチンの製法開発

mRNAワクチン製造においては、大腸菌 (*E. coli*) のプラスミドを用いて製造される転写反応のテンプレートの製造が最も重要な工程となる。テンプレートには、*E. coli*を用いて増幅し、精製したプラスミドを直鎖化し、単独又は複数結合させたもの、もしくはこのプラスミドからPCR反応によって目的配列を増幅したDNAが用いられる。これらのテンプレートに対して、RNAポリメラーゼを用いた*in vitro*転写反応で、mRNAが転写合成される。用いるプラスミドは基本的に*E. coli*で増幅させ抽出精製されることから、テンプレートを製造する際には、

プラスミドを製造する *E. coli* に由来する宿主細胞由来タンパク質やDNAが原料から混入する不純物として管理する必要がある。更にテンプレートに、プラスミドが断片化したDNAや環状プラスミドそのものが混入している場合、不完全配列のmRNAが最終製品に混入する可能性があり、不完全配列のmRNAについては、目的物質由来不純物として評価を行うことが重要である。

転写反応では基質塩基として、ATP、GTP、CTP、UTP又はそれらの修飾ヌクレオシド三リン酸（NTP）を基質として、RNAポリメラーゼ（T7 RNA、SP6、T3等のDNA依存性RNAポリメラーゼ等）により、テンプレートからmRNAを転写合成することになる。mRNAには十分な鎖長のポリA配列を持つことが重要となるが、鎖長の不均一性をコントロールすることが課題であり、鎖長の不均一性は、mRNAワクチンを品質評価するに際して確認すべき事項の一つである。転写反応においては、mRNAの5'末端に5'-Cap構造が付加され²¹⁾、これによって5'末端の遮蔽やエクソヌクレアーゼに対する抵抗性を与えることができ、安定性に重要な働きをする。このために、ワクシニアウイルス由来キャッピング酵素²²⁾の転写反応中への添加、転写反応後に合成キャップを付加する反応の実施、あるいはアンチリバースキャップ類似体を組込むことなど、様々な手法により5'-Capを付加することができる^{23, 24)}。一方、Capの付加されない不完全mRNAが混入する可能性があり、mRNAワクチンの品質を評価するにあたり、5'-Capの付加効率は確認すべき事項の一つと考えられる。

mRNAの翻訳や細胞内での安定性に重要な役割を果たしているのがポリA配列であり²¹⁾、その鎖長としては100mer以上の長さが必要とされている²⁵⁾。そのため、最適な長さのポリAをmRNAに添加するには²⁶⁾、ポリAをコードしたDNAテンプレートから直接転写するか、ポリAポリメラーゼを用いて転写反応後に付加することが行われている。また、プラスミドに長いポリAを発現させると不安定になることが知られており、このためにポリA鎖中にUGC配列を挿入して、その安定性を増すことも行われている（Fig. 2）^{27, 28)}。

目的とするmRNAワクチンの設計デザインに基づき、*in vitro*転写反応と場合によっては化学付加

反応（Cap構造やポリAの付加）を組み合わせることで製造することとなるが、どのように組み合わせるかによって不純物の構成も異なってくるために、品質の評価も製法を考慮して設定することが重要である。mRNAの製造は、基本的に*in vitro*転写反応を生産の起点とすることになり、用いるテンプレートDNA、RNAポリメラーゼ、基質核酸、酵素反応溶液などに加え、適宜、5'-Cap化酵素やその基質、ポリAポリメラーゼが添加されるが、これらの転写反応の基質や添加剤は反応後、十分に除去される必要がある。そのため、最終製品へのこれら製造工程由来不純物の混入の有無や残存量を評価することは、mRNAワクチンの品質評価において重要である。

また、テンプレートに用いたDNAは転写反応後にDNaseによって分解され、mRNAの精製工程によって十分に除去されることが期待されている。WHOは、従来型のワクチンに含まれる宿主細胞由来DNAについて、がん細胞を基質とした場合と非がん細胞を基質とした場合に分け、その混在量の基準を示しているが、これはワクチンの局所投与によって細胞内への取り込みが一定程度あるとの判断によっている²⁹⁾。またその基準ではDNAの長さについても言及されている。

一方、mRNAワクチンの場合には単に局所投与されるばかりでなく、多くの場合脂質ナノ粒子（LNP）に包含され、細胞内へ積極的に取り込まれることを目指した製剤技術が用いられており、目的とするmRNAと同時に混在しているDNAも細胞内へ積極的に送達されることになる。このために、DNAの残存性について、従来のWHOの考え方でよいのかについて考慮する必要がある。いずれにせよ、混入するDNA量ばかりでなく、その鎖長も含めて残存の妥当性を説明することが必要である。

*In vitro*転写反応に用いるテンプレートは、mRNA生産における出発点とみなせるが、その純度を含めた品質特性は製造するmRNAの品質に影響を与える可能性があり、その品質管理は恒常的な品質を持ったmRNA製品の製造において非常に重要となる（Fig. 3）。したがって、テンプレートの原料であるプラスミドの厳密な受入規格の設定と、適切な工程管理が求められる。また用いるNTPの各添加量が、*in vitro*転写反応での重要工程パラメータ（CPP）になる可能性も検討する必要がある³⁰⁾。

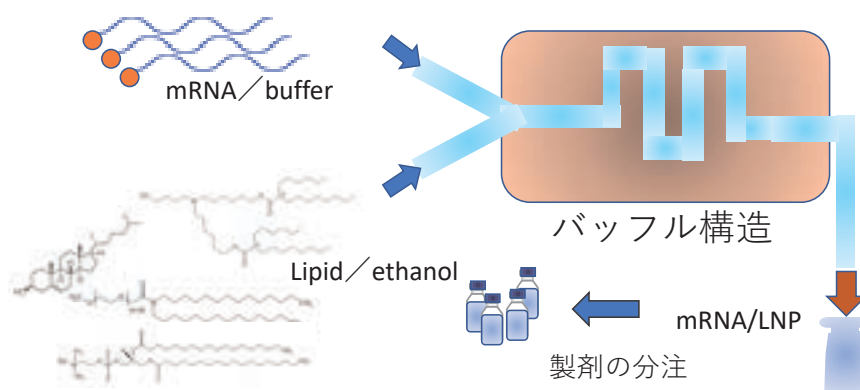


Fig. 3 マイクロ流路によるmRNA LNP製剤製造アウトライン

In vitro 転写反応後、目的とするmRNAを精製するが、テンプレートとして用いたDNAの分解、タンジェンシャルフローろ過 (TFF) 等による不純物の除去とmRNAの濃縮が行われ、目的とするmRNA原薬が調製されることになる。特にmRNAの安定性等を確保するために、RNaseを含まないように精製原薬を調製することが求められる。

mRNA原薬の品質に影響を与える不純物の混入及び除去を管理するためには工程管理を行うことが重要であり、精製工程において、適切な工程パラメータを設定する必要がある。また、特定の工程で十分な除去が確認できる製造工程由来不純物については、最終製品での管理に代わって、工程内管理試験によって品質の担保を行う方が合理的な場合もある。

また製剤化ではmRNAの安定化、目的細胞への送達のためのDrug Delivery System (DDS)、更に細胞内への導入といった一連の工程を担保するためにLNPへの封入化が行われている。このLNP化工程は製剤化の最も重要な工程であり、LNP化後の封入率、粒子径、完全型mRNAの含量、目的物質由来不純物としての分解物mRNAの特性や含量などの評価が重要となる。

またその生物活性の評価も重要であり、製剤を用いた目的抗原発現能の評価や、発現した抗原の特性の評価を実施し、製剤化工程の妥当性を説明する必要がある。

4. 製造したmRNAの特性解析

4.1 原薬

精製原薬を対象として、目標品質特性をもつmRNAが調製できていることを確認するために、物理的・化学的特性、生物活性などの評価に加え、多様な製造工程由来不純物や目的物質由来不純物としてどのようなものがあり、その混在等について明らかにすることが重要である。非増幅型のmRNAの基本構造は、Fig. 2に示したような構成配列を持っている。mRNAの一次配列の確認は、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS/MS) を用いた oligonucleotide mapping 解析によって行われることが多い。また高分解能の解析が可能なUPLC (超高速液体クロマトグラフ)/UV-MSを用いることにより、明らかにした鎖長からmRNAの完全性を確認する手法として用いることも可能である。

原薬に含まれているmRNA量については、定量PCR (qPCR) やdigital-PCRによる解析が利用されている。更に、不完全型mRNAの推定にも利用される。ポリA鎖の付加の不均一性についてはLC/MS/MSでは十分な解析が難しいと考えられ、その存在比 (不均一性) については、逆相高速液体クロマトグラフ (RP-HPLC) などの解析によって明らかにすることが求められる。不均一性については、*in vitro* 転写反応後にポリA付加反応を行ったのか、ポリT配列をテンプレートとしたのかによって異なってくる可能性がある。

目的物質関連不純物として存在するCap構造の付加されていないmRNA、不完全な転写産物、不十分なポリA鎖長のmRNAについては、RP-HPLC

が有用な解析手段となる。また、そのほかの解析対象となる目的物質由来不純物としては、2本鎖RNA含量の解析が必要となるであろう。2本鎖RNAは自然免疫を活性化する作用が高いとされるため、イムノブロット法などによってその含量が解析されることが多い。

mRNAは配列依存的に2次構造や高次構造をとることが知られており、円二色性(CD)スペクトルや核磁気共鳴(NMR)スペクトル、示差熱量計を用いた熱力学的パラメータの解析などによって情報を得ることができる。これらの手法を適用したとしても、目的とするmRNAの高次構造に関する情報が生物活性や安定性など、どこまで関与しているのかについてはまだ十分な知見が得られていない可能性があり、むしろ安定性試験での評価や、製法変更時の新旧製法製品の品質特性の比較などに有用な解析手法となる可能性がある³⁰⁾。

生物活性としてmRNAがコードしている目的抗原等の発現能や発現したタンパク質の特性を確認する際には、*in vitro*で適切なモデル細胞にmRNAを投与することによって抗原タンパク質を発現させ、そのタンパク質をウエスタンブロッティング(WB)で解析することができる。ただWBだけではその存在様式も含めた解析は難しく、例えば細胞膜表面に分布するように発現タンパク質がデザインされている場合には、発現細胞内での分布を解析し、発現タンパク質が細胞膜表面に存在することを確認しなければ特性解析が十分ではない可能性がある。その他に、mRNAを投与した細胞での目的タンパク質発現を細胞免疫学的に定量解析することにより、生物活性を明らかにすることが適切な場合もある。例えば、回復者血漿等に含まれる目的ウイルス抗原に対する抗体を用いて、細胞に発現させた目的タンパク質の反応性を解析することにより、抗原としての有用性を示すことも可能である^{31, 32)}。

製造工程由来不純物としては、*in vitro*転写反応に用いるテンプレートDNA、RNAポリメラーゼ、転写反応後にDNAを分解するためにDNase、更にはテンプレートに混在する*E. coli*等の宿主細胞由来タンパク質、DNAやエンドトキシンなどが混入してくる可能性がある。DNAの混入に関しては存在量ばかりでなく、どのような鎖長のDNAが残存しているのかを評価することが重要である。特に鎖長

の長いDNAの混入量については、測定結果に基づいて妥当性を評価すべきである。

また、Cap構造やポリAを酵素的に伸張させた場合には、用いた酵素等の混入量についても評価しておくことが重要である。

4.2 製剤の特性解析

mRNAはRNase等により容易に分解されやすく、また単体では細胞へ取り込まれにくいために、その製剤化工程で、生体内での安定性、目的細胞への送達、細胞内への徐放を目的としてLNPへの内包化が行われる。この精製mRNA原薬のLNPへの内包化に際しては、様々な体内での挙動の変化を期待して複数の脂質分子が使用され、mRNAを脂質分子へ効率的に内包化させるため、バッフル構造を持ったマイクロ流路を用いて製剤化が行われている(Fig. 3)。

LNPを用いた製剤化工程の設計について、それぞれ用いる脂質の特徴を化学的に説明することと共に、mRNAを内包したナノ粒子の物理的パラメータの観点から、目的とした特性が得られていることを明らかにして、製剤設計の目的及び規格設定の妥当性を説明することが重要と考えられる。加えて、最終製品としての製剤品質の一貫性や、安定性が担保されていることを確認する必要がある。また、LNPを構成する脂質の毒性評価に加え、免疫応答や有効性に影響を与える製剤の機能について、すなわちそれぞれの効果に対してプラスに働くのか、逆にマイナスの作用をもつか、などの特性を明らかにしておくことが有用な場合がある。

製剤化に用いる脂質構成成分の役割や安全性について、評価をすることが求められる。例えば、脂質成分の一つがアジュバント効果を発揮する可能性がある場合には、LNPに含まれる当該脂質の含量が重要な品質特性になる可能性がある。したがって、製剤化した粒子に含まれる脂質の構成やその含量等の一貫性についても評価をしておく必要がある。

5. 規格試験の設定

原薬の規格試験と規格設定：

原薬の品質を担保するために、原薬の重要な原材料である、*in vitro*転写反応に用いるテンプレート

については、受入規格を設定することが合理的と考えられる。規格に設定すべき項目としては、不完全型配列やエンドトキシンといった純度に関するものが一例として想定される。

原薬の規格としては、確認試験、含量や物理的・化学的特性、生物活性、目的物質関連物質、目的物質由来不純物、製造工程由来不純物などの純度が想定されるが、特に、5'-CapやポリAが適切に付加されている状態か、mRNA純度(完全性)、不純物(二本鎖RNA、目的の長さよりも短い又は長いRNA、テンプレートDNA)の残存性などの設定を考慮すべきであろう (Table 1)。ただし工程管理試験として適切に管理できるものは、最終規格としないという選択肢もありえる。不純物については、その安全性マージンが十分担保できる規格値の設定が求められる。更に、採用した試験法が十分な感度や精度を持っているかについて説明が必要である。

製剤の規格試験法：

Table 1に挙げたような製剤の試験が想定されるが、必ずしもすべての試験を網羅しているわけではなく、すべての試験が必要なわけではない。一方で含量に関する試験は、投与量の設定に必須の試験であり、精度や妥当性を示すことが有用な場合がある。製剤化工程が生物活性にどのような影響を与えるのか、またその恒常性も含めて検討を行うことが重要である。

標準物質：

一般的には、高度に精製されたmRNA原薬を、様々な角度から十分に特性解析して標準物質とすることが多い。例えば臨床試験で評価されたバッチを、化学組成、純度、生物学的活性及び完全な配列解析等によって十分に特性解析されたものとして、物性や生物学的標準物質として使用するために用い

Table 1 製剤の規格試験

WHO	コミナティ筋注	スパイクバックス筋注
原薬		
Identity	確認試験	確認試験 (塩基配列)
Purity and impurities	RNA 完全性、純度試験 (二本鎖RNA、テンプレートDNA)、5'キャップ、ポリA鎖	純度試験 (mRNA純度、目的物質由来不純物、残留DNA、5'キャップ付加体率、ポリA鎖)
Quantification and physical state	含量及び定量法	含量及び定量法
Safety attributes	微生物限度、エンドトキシン	微生物限度、エンドトキシン
Additional quality attributes	性状、pH	性状、pH
製剤		
Identity	確認試験 (RNA)	確認試験 (RNA)
Purity and impurities	RNA 完全性	純度試験 (RNA、目的物質由来不純物)
Content, strength, or quantity	含量規格及び定量法	含量規格及び定量法
Safety attributes	無菌試験及びエンドトキシン試験	無菌試験及びエンドトキシン試験
Additional quality attributes	性状、pH、確認試験 (脂質) 及び脂質含量、粒子径及び粒子の多分散性、封入RNA、浸透圧、不溶性微粒子、採取容量	性状、pH、確認試験 (脂質) 及び脂質含量、純度試験 (脂質不純物)、平均粒子径及び多分散指数、RNA封入率、浸透圧、不溶性異物、不溶性微粒子、採取容量
Potency	生物活性	<i>in vitro</i> 翻訳

文献35並びにコミナティ筋注及びCOVID-19ワクチンモデルナ筋注の審査報告書の内容の一部変更して作成。なお、審査報告書のマスキング内容は本表には含まれない。

るべきであろう。

6. 安定性試験と有効期間の設定

mRNAの原薬や製剤は保存温度により影響を受けやすい特性があるため、バイオ医薬品と同様に、基本的には実保存条件及び実保存期間で評価した安定性試験の結果からの安定性プロファイルの十分な理解に基づき、有効性及び安全性に関して同等と見なせる一定の品質が保持されていることが保証できる有効期間を設定することが重要と考えられる。更に、実際の使用シーンを踏まえた複数の温度での安定性試験の実施や、凍結融解条件での試験を実施した結果に基づく考察を行うことは、原薬及び製剤の安定性を理解し、実臨床での製剤の温度管理を行うにあたり、有用な情報が得られる可能性がある。

7. 非臨床試験

mRNAワクチンの非臨床試験は、「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」³³⁾を参考にして実施することが考えられる。その一方で、mRNAワクチン特有の品質特性を踏まえて、その安全性や有効性を評価すべきである。例えば、LNP-mRNAワクチンでは、LNPの構成成分がヒトでの使用例のない化学物質が使用されている場合には、新添加剤に求められる非臨床安全性評価が必要になる。また、mRNA (5'-CapやポリAを含む)に化学修飾が利用される場合には、当該修飾に注目した安全性評価を検討する必要がある。

本邦で既に承認されているmRNAワクチン(2023年5月現在)では、前項で述べたようにmRNAによる高い自然免疫活性化能を低減化するために、ウリジンがシュードウリジンに置換されているが、シュードウリジンは天然に存在する核酸であることから、遺伝毒性の懸念はないと考えられる。なお、mRNAによる自然免疫活性化は、投与部位での炎症反応や発熱等の有害作用を引き起こす懸念があるが、動物での試験成績をヒトに外挿することには限界があることから、臨床試験において慎重に評価することが必要である。

パンデミック下におけるSARS-CoV-2ワクチンの開発では、既に承認された又は治験に用いられた

ワクチン製造に利用されたプラットフォーム技術が十分に明らかにされている場合には、同じプラットフォーム技術を用いて製造した他の製品の非臨床安全性試験成績を、臨床試験の開始を判断するデータとして利用可能とされた³⁴⁾。WHOでは、SARS-CoV-2ワクチン以外のmRNAワクチンについても、同一プラットフォームの考え方を利用することで、各規制当局の合意があれば非臨床安全性試験の省略が可能としている³⁵⁾。

8. 臨床試験

mRNA製品の臨床試験についても、「感染症予防ワクチンの臨床試験ガイドライン」³⁶⁾に従って進めることが求められる。ただし、非臨床試験と同様に、mRNAワクチン製品特有に考慮すべき事項があれば、別途評価を行うことが求められる。

謝辞

本稿を執筆するにあたり、以下の独立行政法人医薬品医療機器総合機構ワクチン等審査部のメンバーに謝辞を申し上げます。

福地準一、吉田貴明、河村美尋、河内健吾。

本研究の一部は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 医薬品等規制調和・評価研究事業「医薬品等規制調和・評価研究事業」(22mk010194j002)の支援を受けて実施した成果である。

文献

- 1) Polack, F.P.; Thomas, S.J.; Kitchin, N., *et al.* Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med.* 2020, **383**, p.2603-2615. DOI: 10.1056/NEJMoa2034577.
- 2) Baden, L.R.; El Sahly, H.M.; Essink, B., *et al.* Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med.* 2021, **384**, p.403-416. DOI: 10.1056/NEJMoa2035389.
- 3) Barda, N.; Dagan, N.; Cohen, C., *et al.* Effectiveness of a third dose of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine for preventing severe outcomes in Israel: an observational study. *Lancet.* 2021, **398**, p.2093-2100.
- 4) Zhang, Z.; Mateus, J.; Coelho, C.H., *et al.* Humoral and cellular immune memory to four COVID-19 vaccines. *Cell.* 2022, **185** (14), p.2434-2451. e17. doi: 10.1016/j.cell.2022.05.022. Epub 2022 May 27.
- 5) Park, J.W.; Lagniton, P.N.P.; Liu, Y.; Xu, R-H. mRNA

- vaccines for COVID-19: what, why and how. *Int J Biol Sci.* 2021, **17** (6), p.1446-1460. doi:10.7150/ijbs.59233.
- 6) <https://news.modernatx.com/news/news-details/2023/Moderna-Announces-Interim-Phase-3-Safety-and-Immunogenicity-Results-for-mRNA-1010-a-Seasonal-Influenza-Vaccine-Candidate/default.aspx>
 - 7) Bloom, K.; van den Berg, F.; Arbutnot, P. Self-amplifying RNA vaccines for infectious diseases. *Gene Ther.* 2021, **28**, p.117-129.
 - 8) <https://www.science.org/content/article/mrna-vaccine-twist-it-copies-itself-protects-against-covid-19> doi: 10.1126/science.abq6562.
 - 9) WHO/RNA/DRAFT/22 DECEMBER 2020 Evaluation of the quality, safety and efficacy of RNA-based prophylactic vaccines for infectious diseases: regulatory considerations. https://www.who.int/docs/default-source/biologicals/ecbs/reg-considerations-on-rna-vaccines_1st-draft_pc_tz_22122020.pdf?sfvrsn=c13e1e20_3
 - 10) Chaudhary, N.; Weissman, D.; Whitehead, K.A. Naure Review Drug Discovery. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00283-5>
 - 11) Alexopoulou, L.; Holt, A.C.; Medzhitov, R. and Flavell, R.A. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3. *Nature.* 2001, **413**, p.732-738.
 - 12) Diebold, S.S.; Kaisho, T.; Hemmi, H.; Akira, S. and Reis e Sousa, C. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science.* 2004, **303**, p.1529-1531.
 - 13) Heil, F.; Hemmi, H.; Hochrein, H.; Ampenberger, F.; Kirschning, C.; Akira, S., *et al.* Species-specific recognition of single-stranded RNA via Toll-like receptor 7 and 8. *Science.* 2004, **303**, p.1526-1529.
 - 14) Karikó, K.; Buckstein, M.; Ni, H. and Weissman, D. Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity.* 2005, **23**, p.165-175.
 - 15) Karikó, K.; Muramatsu, H.; Welsh, F. A., *et al.* Incorporation of Pseudouridine into mRNA Yields Superior Nonimmunogenic Vector with Increased Translational Capacity and Biological Stability. *Mol. Ther.* 2008, **16**, p.1833-1840. doi:10.1038/mt.2008.200.
 - 16) Kariko, K.; Muramatsu, H.; Ludwig, J. & Weissman, D. Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleosidemodified, protein-encoding mRNA. *Nucleic Acids Res.* 2011, **39**, e142.
 - 17) Thess, A., *et al.* Sequence-engineered mRNA without chemical nucleoside modifications enables an effective protein therapy in large animals. *Mol. Ther.* 2015, **23**, p.1456-1464.
 - 18) Kudla, G.; Lipinski, L.; Caffin, F.; Helwak, A. & Zyllicz, M. High guanine and cytosine content increases mRNA levels in mammalian cells. *PLoS Biol.* 2006, **4**, e180.
 - 19) Kudla, G.; Murray, A. W.; Tollervey, D. & Plotkin, J. B. Coding-sequence determinants of gene expression in *Escherichia coli*. *Science.* 2009, **324**, p.255-258.
 - 20) Blakney, A. K.; McKay, P. F.; Yus, B. I.; Aldon, Y. & Shattock, R. J. Inside out: optimization of lipid nanoparticle formulations for exterior complexation and in vivo delivery of saRNA. *Gene Ther.* 2019, **26**, p.363-372.
 - 21) Gallie, D. R. The cap and poly (A) tail function synergistically to regulate mRNA translational efficiency. *Genes Dev.* 1991, **5**, p.2108-2116.
 - 22) Martin, S. A.; Paoletti, E. & Moss, B. Purification of mRNA guanylyltransferase and mRNA (guanine7-) methyltransferase from vaccinia virions. *J. Biol. Chem.* 1975, **250**, p.9322-9329.
 - 23) Stepinski, J.; Waddell, C.; Stolarski, R.; Darzynkiewicz, E. & Rhoads, R. E. Synthesis and properties of mRNAs containing the novel "anti-reverse" cap analogs 7 methyl (3' O methyl) GpppG and 7 methyl (3' deoxy) GpppG. *RNA.* 2001, **7**, p.1486-1495.
 - 24) Malone, R. W.; Felgner, P. L. & Verma, I. M. Cationic liposome-mediated RNA transfection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1989, **86**, p.6077-6081.
 - 25) Chaudhary, N.; Weissman, D.; Whitehead, K.A. mRNA vaccines for infectious diseases; principles, delivery and clinical translation. *Nature Rev.* 2021, **20**, p.817-838.
 - 26) Holtkamp, S., *et al.* Modification of antigen-encoding RNA increases stability, translational efficacy, and Tcell stimulatory capacity of dendritic cells. *Blood.* 2006, **108**, p.4009-4017.
 - 27) Standler, C.R.; Bahr-Mahmud, H.B.; Celik, L., *et al.* Elimination of large tumors in mice mRNA- encoded bispecific antibodies. *Nature Med.* 2017, **23**, p.815-822.
 - 28) Eberie, F.; Sahin, U.; Huhn, A., *et al.* Stabilization of poly (a) sequence encoding dna sequences. US 2017/0166905 A1 (2017).
 - 29) Lebron, J.A.; Troilol, P.J.; Pacchione, S., *et al.* Adaptation of the WHO guideline for residual DNA in parenteral vaccines produced on continuous cell lines to a limit for oral vaccines. *Dev Biol (Basel).* 2006, **123**, p.35-44. discussion p.55-73.
 - 30) European Medicines Agency. Science Medicines

- Health. Assessment report. 19 February 2021. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf.
- 31) Sahin, Ü.; Muik, A.; Derhovanessian, E., *et al.* COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020, **586**, p.594-599.
 - 32) Mulligan, M.J.; Lyke, K.E.; Kitchin, E., *et al.* Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature*. 2020, **586** (7830), p.589-593. doi: 10.1038/s41586-020-2639-4. Epub 2020 Aug 12.
 - 33) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. 「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」について. 薬食審査発0527第1号, 平成22年5月27日.
 - 34) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 ワクチン審査部. 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) ワクチンの評価に関する考え方. 令和2年9月2日.
 - 35) WHO. Evaluation of the quality, safety and efficacy of messenger RNA vaccines for the prevention of infectious diseases: regulatory considerations. Annex 3, Technical Report Series, No. 1039 (2022).
 - 36) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. 「感染症予防ワクチンの臨床試験ガイドライン」について. 薬食審査発0527第5号, 平成22年5月27日.